

# Siloxanediol coating for capillary electrophoresis and for general surface modification

Publication number: JP7507876 (T)

Publication date: 1995-08-31

Inventor(s):

Applicant(s):

Classification:

- International: B01J20/263; B01D57/02; B01J20/281; G01N27/447;  
G01N30/08; B01D47/02; B01J29/281; G01N27/447;  
G01N30/02; (PC1-7) G01N27/447; B01D57/02; G01N30/48

- European: G01N27/447B6

Application number: JP19930515429T 19931222

Priority number(s): WO1993US12513 19931222, US19920994832 19921223

Also published as:

US5322608 (A)

AU5874194 (A)

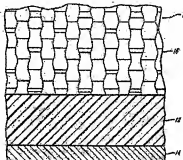
WO9415209 (A1)

EP0627079 (A1)

Abstract not available for JP 7507876 (T)  
Abstract of corresponding document US 5322608 (A)

A coated microcapillary column for high performance electrophoresis is disclosed. A preferred microcapillary includes a column, a universal sub-layer of coating material that has been highly crosslinked using a crosslinking agent and attached covalently or non-covalently to the column wall, and a variable top layer of a monomer or polymer, preferably crosslinked, attached to the sub-layer.

The microcapillary preferably is prepared by covalently bonding a highly crosslinked siloxanediol sub-layer to the inner surface of the microcapillary wall and then causing a mixture of monomers or polymers to react in the bore of the microcapillary to form a top layer. This bilayer coating as used in a microcapillary prevents adsorption of solutes during electrophoresis and eliminates or controls electroosmotic flow. This disclosed coating may also be formed on other kinds of surfaces where similar surface modification is desired. This sub-layer, which can be formed from other siloxane derivatives having two nucleophilic end groups, e.g., diamino or dithiol, may be used independently, or as a base layer for bilayer or even multilayer surface formation.



Data supplied from the esp@cenet database — Worldwide

特表平7-507876

第6部門第1区分

(43) 公表日 平成7年(1995)8月31日

(51) Int. Cl. *	識別記号	序内整理番号	F I
G 0 1 N 27/447			
B 0 1 D 57/02		9344-4D	
G 0 1 N 30/48	Y	9407-2 J	
	K	9407-2 J	
		7363-2 J	
		G 0 1 N 27/ 26	3 3 1 Z
		審査請求 未請求	予備審査請求 未請求 (全 9 頁)
<p>(21) 出願番号 特願平6-515429</p> <p>(86) (22) 出願日 平成5年(1993)12月22日</p> <p>(85) 翻訳文提出日 平成6年(1994)8月23日</p> <p>(86) 国際出願番号 P C T / U S 9 3 / 1 2 5 1 3</p> <p>(87) 国際公開番号 W O 9 4 / 1 5 2 0 9</p> <p>(87) 国際公開日 平成6年(1994)7月7日</p> <p>(31) 優先権主張番号 9 9 4 , 8 3 2</p> <p>(32) 優先日 1992年12月23日</p> <p>(33) 優先権主張国 米国 (U S)</p> <p>(81) 指定国 E P (A T , B E , C H , D E , D K , E S , F R , G B , G R , I E , I T , L U , M C , N L , P T , S E ) , A U , J P</p>			
<p>(71) 出願人 ノースイースタン ユニバーシティ アメリカ合衆国 02115 マサチューセツ ツ州 ボストン ハンティングトン アベ ニュー 360</p> <p>(72) 発明者 カルガー, パーリー エル, アメリカ合衆国 02159 マサチューセツ ツ州 ニュートン デボラ ロード 62</p> <p>(72) 発明者 シュマルジング, ディーター アメリカ合衆国 02118 マサチューセツ ツ州 ボストン ナンバー 4 トレモン ト ストリート 750</p> <p>(74) 代理人 弁理士 秋元 輝雄</p> <p style="text-align: right;">最終頁に続く</p>			

(54) 【発明の名称】 キャピラリー電気泳動のための、および、一般的な表面変更のためのシロキサンジオールのコーティング

## (57) 【要約】

ハイパフォーマンスの電気泳動のためのコーティングされたマイクロキャピラリーカラム。好ましいマイクロキャピラリーは、カラム；架橋剤を用いて高度にクロスリンクされ、かつ、カラムの壁に共有付着または非共有付着されているコーティングマテリアルのユニバーサルなサブレイヤー；および好ましくは、クロスリンクされていて、サブレイヤーに付着されているモノマーまたはポリマーの可変トップレイヤーを含む。該マイクロキャピラリーは、高度にクロスリンクされたシロキサンジオールのサブレイヤーをマイクロキャピラリーの壁に共有結合され、そして、モノマーまたはポリマーの混合物をマイクロキャピラリーのポア内で反応させてトップレイヤーを形成させることによって作られることが好ましい。マイクロキャピラリーに使用されるものとしての複層コーティングは、電気泳動の間、溶質の吸着を防ぎ、電気浸透フローをなくし、または、コントロールする。例えば、ジアミノまたはジチオールのような二つの求核末端基をもつ他のシロキサン誘導体から作ることができるサブレイヤーは、独立して使用できるし、または、複

層のベース層として、または、イブンのマルチレイヤー・サーフェイス・フォーメーションとして使用できる。

請求の範囲：

1. 高圧度で高いパフォーマンスの電気活動のためのマイクロキャピラーカムで、以下の構成からなるもの：
  - 内部キャピティと内面をもつ壁とを有するマイクロキャピラー；
  - クロスリンク層と高圧にクロスリンクされ、前記壁の前記内面に共有付着または非共有付着されたシロキサンゾル・ポリメリック・コーティングマテリアルのサブレイヤー；および
  - 前記サブレイヤー・コーティングマテリアルに共有付着または非共有付着されたコーティングマテリアルのトップレイヤー。
2. 前記マイクロキャピラーが溶融シリカで作られている請求の範囲1のマイクロキャピラーカム。
3. コーティングマテリアルの前記トップレイヤーがクロスリンクされている請求の範囲1のマイクロキャピラーカム。
4. 前記サブレイヤー・コーティングマテリアルがポリメチルシロキサンゾルである請求の範囲1のマイクロキャピラーカム。
5. コーティングマテリアルの前記トップレイヤーは、クロスリンクされていないポリアリルアミドからなる請求の範囲1のマイクロキャピラーカム。
6. コーティングマテリアルの前記トップレイヤーは、クロスリンクされたポリアリルアミドからなる請求の範囲1のマイクロキャピラーカム。
7. コーティングマテリアルの前記トップレイヤーは、ポリメチロールアリルアミドからなる請求の範囲1のマイクロキャピラーカム。
14. 前記の付着工程において、シロキサン誘導体は、シロキサンゾルである請求の範囲1の方法。
15. 前記の付着工程は、前記のクロスリンク工程に先立って行われる請求の範囲1の方法。
16. 前記クロスリンク工程において、前記塗料は、前記ポリマー・コーティングマテリアルからセパレートのものである請求の範囲1の方法。
17. 前記塗料は、前記クロスリンク工程に先立つバーシクルのクロスリンク工程における前記ポリマー・コーティングマテリアルの層のポリマーに付着されている請求の範囲1の方法。
18. 前記ポリマー・コーティングマテリアルは、複数の非求核付着センターを備える請求の範囲1の方法。
19. 前記非求核付着センターは、ピュル基からなる請求の範囲1の方法。
20. 前記非求核付着センターは、アルキル基からなる請求の範囲1の方法。
21. 前記面に付着の前記塗料は、サブレイヤーであって、前記方法は、さらに、前記コーティングの第2の層の分子を前記ポリマー・コーティングマテリアルの前記複数の非求核付着センターに付着させる工程を含む請求の範囲1の方法。
22. 前記第2の層のための前記分子がそれぞれ自身クロスリンクされている請求の範囲21の方法。
8. 高圧度で高いパフォーマンスの電気活動のためのマイクロキャピラーカムで、以下の構成からなるもの：
  - 内部キャピティと内面をもつ壁とを有する溶融シリカのマイクロキャピラー；
  - 前記壁の前記内面に共有結合され、高圧にクロスリンクされたポリメチルシロキサンゾルであるコーティングマテリアルのサブレイヤー；および
  - 前記コーティングマテリアルのサブレイヤーに共有結合されているポリアリルアミドからなるトップレイヤー。
9. 前記ポリアリルアミドがクロスリンクされたポリアリルアミドである請求の範囲8のマイクロキャピラーカム。
10. 前記ポリアリルアミドがポリメチロールアリルアミドである請求の範囲8のマイクロキャピラーカム。
11. 下記の工程からなる面にコーティングを形成する方法：
  - コーティング付着の面を準備する；
  - 二つの求核末端基をもつシロキサン誘導体からなるポリマー・コーティングマテリアルの層を前記面に付着する；および
  - 前記ポリマー・コーティングマテリアルの層のポリマーを溶媒剤を用いてクロスリンクさせること。
12. 前記の付着工程において、前記のポリマー・コーティングマテリアルの層が前記の面に共有結合されている請求の範囲11の方法。
13. 前記の付着工程において、前記のポリマー・コーティングマテリアルの層が前記の面に非共有的に固定されている請求の範囲11の方法。
23. 前記第2の層のための前記分子が前記第2の層のための前記分子を付着する前記工程の後にクロスリンクされる請求の範囲22の方法。
24. 前記ポリマー・コーティングマテリアルは、ポリメチルシロキサンゾルである請求の範囲21の方法。
25. 前記コーティングの第2の層のための前記分子は、ポリアリルアミドである請求の範囲21の方法。
26. 第2の層のための分子を付着させる工程において、第2の層のための前記分子は、前記ポリメチルシロキサンゾルのピュル基と共有的に反応する請求の範囲24の方法。
27. 第2の層のための分子を付着させる工程において、第2の層のための前記分子は、前記ポリメチルシロキサンゾルと非共有的に結合する請求の範囲24の方法。
28. 下記の工程からなる、面に堆積コーティングを形成する方法：
  - コーティング付着の面を準備すること；
  - シロキサンゾル・ポリマー・コーティングマテリアルの溶液を前記面に付着すること；
  - 溶媒剤を用いて層のシロキサンゾル・ポリマーをクロスリンクさせること；および
  - 前記堆積コーティングのトップ層のための分子を前記クロスリンクされたシロキサンゾル・ポリマー・コーティングマテリアルの非求核付着センターへ付着させること。
29. 下記を備える、面へマルチレイヤー・コーティング：

前記面へ共有結合または非共有結合されているポリマー・コーティングマテリアルのサブレイヤーで、前記ポリマー・コーティングマテリアルは、二つの炭素末端基をもつシロキサン誘導体からなり、前記コーティングマテリアルの端々のポリマーは、炭素網を用いてクロスリンクされており、前記ポリマー・コーティングマテリアルは、さらに複数の非炭素付着センターを備えているものであるサブレイヤー；および

前記ポリマー・コーティングマテリアルの前記複数の非炭素付着センターは共同的に、又は、非共同的に付着されているコーティングマテリアルの第2の層。

30. 前記シロキサン誘導体は、シロキサンジオールである請求の範囲第29のマルチレイヤー・コーティング。

31. 前記非炭素付着センターは、ビニル基である請求の範囲第29のマルチレイヤー・コーティング。

32. 下記を備える、面への一般的なコーティング：  
前記面へ共有付着または非共有付着されているポリマー・コーティングマテリアルで、前記ポリマー・コーティングマテリアルは、二つの炭素末端基をもつシロキサン誘導体からなり、前記コーティングマテリアルの端々のポリマーは、炭素網を用いてクロスリンクされているもの。

1. ドル電気泳動カラムを示し、これは、溶媒シロカチューブ、ポリアクリルアミド・ゲルマトリックスおよび該チューブと該ゲルマトリックスとの間でカラムにクロスリンクされており、そして、該チューブと該ゲルマトリックスとの両者に共有付着しているポリドメチルシロキサンの層を有している。

フアンダメント (*J. Micro. Space.* 1:135-143, 1992) は、マイクロキャピラリーチューブの両にポリエチレン・ジアルコールおよびポリエチレン・イミンを結合する手順をレポートしている。該マイクロキャピラリーの両は、まず最初、シロキサン炭素化ポリマーの結合のためのシロキサン基の均一で、適度な分布を有するように処理される。例えば、250°C のような昇温された温度で、ポリメチルシロキサンにおけるS-H基はキャピラリーの面でシロキサン基と反応し、S-H基交差結合ポリマー層を形成する。S-H基を介しての適度な反応がさらにポリマー層をクロスリンクさせる。

#### 発明の概要

本発明は、マイクロキャピラリー電気泳動カラムにおいて見いだされるような面に着したコーティングを大々的な特徴とする。該コーティングは、ユニバーサルで、高度にクロスリンクされたサブレイヤーで、この上に可変のトップレイヤーまたは複数の層が形成される層を含む。発明のコーティングの例 (*coat layer*) は、一般的には、二つの炭素末端基 (例えば、シロキサンジオール) と交差結合試薬を用いるコーティングマテリアルのクロスリンク・インデュシブル・ポリマー・ポリマー層を有するシロキサン誘導体からなるポリマー・コーティングマテリアルの両端の面に付着させることにより形成されるものである。クロスリンクの工程は、付着工程の前または付着工程後、乾燥工程とポリマー・コーティングマテリアルとの間の付着は、電子対共有、または、電子対共有のものではないものであってもよい。好ましいコーティングマテリアルは、ポリメチルシロキサンをサンジオールである。

ポリマー・コーティングマテリアルが、前記コーティングの第2の層を電子対共有的に、または、非電子対共有的に更に付着するサイトに異なる複数の非炭素付着センターを含むことが好ましい。第2の層のポリマーは、これもまた、

#### 詳細書

名称 マイクロキャピラリー電気泳動のための、および、一般に、溶媒電気泳動のためのシロキサン誘導体のコーティング

#### 発明の分類

この発明は、表面用のコーティング、そして、特に詳しくは、マイクロキャピラリー電気泳動カラムに適したコーティングに関するものである。

#### 発明の背景

マイクロキャピラリー電気泳動分離技術は、生化学関連のサイエンスにおいて広い応用範囲があるものである。ペプチド、プロテイン、ネオプレキシドおよびリポ糖脂のような分子種は、電界の影響でバッファ溶液中を移動させることで分離される。この分離は、電気泳動分離中、ゾーンの傾斜を生じる際の放出をなくするために、薄い壁で細いボアのマイクロチューブ内で行われるのが普通である。

とりわけゾーンのずれを生じさせるメカニズムは、不均一な電気泳動と、分離すべき物質がマイクロチューブの内面に吸着してしまうことである。しかしながら、吸着と不均一な電気泳動は、電気泳動チューブの内面に各種のポリマー物質をコーティングすることで解決できる。

米国特許第4,680,201号において、ヒュルタン (Hurlant) は、細いボアのマイクロチューブの内面に、例えば、アクリルアミド・モノリポキシド・モノエチレン・ジアルコールのような二官能試薬の手段によってマイクロチューブの内面に結合されるポリアクリルアミドのモノエチレン・ジアルコール・モノエチレン・ジアルコールを付着する方法を記載している。これらのマイクロチューブは、オープンチューブにおけるよりゾーン電気泳動に使用できる。

ノボムー社の米国特許第5,074,982号は、電気泳動分離に使用されるマイクロキャピラリーの内壁が加水分解安定性のため、グリニヤール試薬を用いる二官能試薬でコーティングであることを記載している。

スロウエーの米国特許第5,110,439号は、ポリアクリルアミド

クロスリンクされる、好ましい第2の層のコーティングマテリアルは、ポリアクリルアミドであり、これは、アミノ基を介してゲルマトリックスとクロスリンクされる。

発明の好ましいマイクロキャピラリーカラムは、内部キャピタリと内面をもつ壁；交差結合剤で高度にクロスリンクされ、前記壁の内面に電子対共有的に、または、非電子対共有的に付着されたシロキサンジオール・ポリマー・コーティングマテリアルのサブレイヤー；および前記サブレイヤー・コーティングマテリアルに電子対共有的に、または、非電子対共有的に付着されたクロスリンクされた、または、クロスリンクされていないコーティングマテリアルのトップレイヤーを有するマイクロキャピラリーを含む。

発明のコーティングは、新しい安定した面 (サーフェース) を作り、広範なpH範囲にわたって、該コーティングを安定させ、必要に応じて、トップレイヤーまたはトップの複数の層のコーティングおよび/または吸着を高度にさせる。マイクロキャピラリー電気泳動に使用されているように、前記コーティングは、電気泳動フローを制御し、または、コントロールし、カラム表面への分析物の吸着を防ぐ。

フーラージュ・フォームーションの増加の方法の代わりに、前記コーティングを安定させるためにクロスリンク工程を使用することは、クロスリンク反応が迅速で付与することを意味する。これによって、非炭素付着センターとしてのポリマー・コーティングマテリアルと結合する基のタイプと数が増える。フーラージュ・クロスリンク工程の間、より高い温度においては、例えば、ビニル基、エポキシ基などの多量の好ましい基が形成される。したがって、発明のコーティングがマルチレイヤー構造のサブレイヤーとして作用するとは、例えば、ポリメチルシロキサンに比べて、より厚い第2の層の形成による。前記コーティングの重合、クロスリンクそしてメタ・フーラージュのための化学反応は、極めて簡単に実行、パラエティに豊富な特性と用途が得られる。

#### 図面の簡潔な記述

発明の他の特徴と利点は、図面の図面に示されている好ましい実施例の

下記の記述から朝らかになるもので、園圃において：

図1は、発明の一実施例のコーティングされたマイクロキャピラリー・カラムの断面図を示し；

図2は、シロネサリジオールを合成するための酸または塩基の関与を示し；

図3は、室温における、クロスリンキング剤を用いてのシロキサンジ  
オール・ポリマーのクロスリンキングを示し；

図4は、発明のシロネサンジオールのアプレイヤー・コーティングのフリービニル基ヘアクリルアミド・ポリマーをグラフトする状態を示し；

図5は、発明のマイクロキヤピラリーカラムを用いた、pH 4、4における塩基性タンパク質のオープンチューブキヤピラリーゾーン電気泳動を示す。

図8は、発酵のマイクロキャピラリーカラムを用いた、pH 8.8における酸性プロテインのオープンチューブキャピラリーゾーン電気泳動を示す。

図7は、発酵のマイクロキタラリ-カラムを用いた、プロテインの SDSゼリマーネットワーク分離を示し；

図8は、発明のマイクロキャピラリーカラムを用いた、DNAのポリマーネットワーク分離を示し；そして、

### 発想の詳細な記述

キャパシタ―電気双極子に実効する発切は、分離キャパシタ―の内部ヘの高度にクロスリンクしたコア部分を提供する。図1に示すように、発切のマイクロキャパシタ―構造は、マイクロキャパシタ―10;例えば、シリコンナジオールのような二つの求核基を有するシロキサン誘導体のテトラヒドレニルで、マイクロキャパシタ―の内側14に電子対共有または非電子対共有の材料で、クロスリンクング網を用いて、フリアリザルベンゾエーセンで付着され、好しく好まぬ度、広範囲にクロスリンクされたプレミーアセ12;とはなく、好しく好まぬ度、広範囲にクロスリンクされたプレミーアセ12;とはなく、好しく好まぬ度、広範囲にクロスリンクされたプレミーアセ12;

[illegible]

スターティングのシロキサンジオール・ポリマーのジオール末端基の  
 基がサプレィヤ・クロシシチン・プロペキスに反応するで、サプレィ  
 ・マリツタの内部にプロペキス・トリペキスの付着を完全に利用する。  
 このような付着を行うには、クロシチンされたポリメチルシロキサンジ  
 オールでコーティングされたようににクロシチン・トリ、トリ、トリ・トリ  
 エンチン・トリ (TME) 及び過酸化アンモニウムの溶液を充満する。  
 アクリル・トリ分子は、重合し、図4に示すように、遊離シロキサン基と反応して  
 シロキサンジオールの基にグラフトする。約12時間の後、グラフトされないポリ  
 アクリル・トリは、洗剤で洗い出される。

シロキアジソール・ポリアクラルミドの膜をさらに安定化させるために、炭化水素6員を10に置換したフェルムアルゲドの水溶液を充填する。ハントレーの米国特許第3,214,420号に示されているように、前記フェルムアルゲドは、アクリルと内部のアミド基と反応して、メチロールアクラルミドを形成し、これは、強くクロスリンクして、ポリメチロールアクラルミドまたはトブレイン<sup>®</sup>を形成する(図1)。約3時間の後、フェルムアルゲド溶液は、注ぎ器で追い出され、前記アクラルは、使用準備したになる。この二重クロスリンクングプロセスは、例えば、ビスマラック<sup>®</sup>に代る。

よびタロスリンクされたシロキサンジオール層の多数のインターナル非求核センターへ付着（電子対共有的または非電子対共有的に）である分子のトップフォーティンダレイヤー1層を含む。

マイクロキャピラリーは、電気加熱に使用される機械システムが使用される特定のマテリアルと適当に機能することができるものであれば、多種類のマテリアルから作成することができる。適当なマテリアルは、熔融シリカ、ガラス、アルミナ、ペリヤおおよびテフロン（両側）を含む、マイクロキャピラリーは、熔融シリカで作られることが好ましい。

第1回内田コーピング展(サブタイトル「12」)は、分類案件の内容  
 面に電子対共有等付着した高度化クロマトグラフとされたリチウムイオン電池、コ  
 ニック電池などの好ましい。このコンパニオン展のベース欄は、コ  
 ティングロッド決定定法を与え、その二重結合を介して、標準な最終のトブレイ  
 ーに到達したまたは最善するグラフとデータを提示する。トブレイナー  
 には、そのコンパニオングラフとされた高度化クロマトグラフとされたポリメ  
 ールクラリア1200などの好ましい。ゼラチン、アクリルアミドの  
 前に「12」は、電気分解プロセスを説明したコンパニオン展のであり、特  
 別案件の展示は、電気分解を説明する。その前に、前記コーピングは、止  
 り口経路にわたり決定を確立し、高度化実験再現性を与える。前記タムは

サブプレーン12の割製に用いられるロキサンゾールは、確立された工程により、1,3,5,7,9-ヘキサメチルエナントラチオメチルロキサンゾールから脱触媒または触媒による反応で生成されるものである(例えば、ジェイ、ダブリュー、アービン、シリオン・アパベンゾ・シリヤン・アン・ド・アトランブール、アーベンゾ・スイス社、パタント・ド・イヌヴェンション、ニューヨーク・ダウ・ゴストランド、ラインカール(1990)参照)。図2を参照すると、1,3,5,7,9-ヘキサメチルロキサンゾールからロキサンゾールが得られ、組合反応を経て、ロキサンゾールの低級ポリマーが作られる。ロキサンゾールの分子量は、1,3,5,7,9-ヘキサメチルエナントラチオメチルロキサンゾールに対する量または塩基のモル比によってコントロールされる。

使用したり、または、キャピタリー内でメタルアクリルアミドを直接重合して、ポリアクリルアミド分子をクロスリンクするスタンダードな工法よりも簡単にコントロールされるものである。多価糖の他のシロキサン（例えば、炭素例）に示されるようなものもクロスリンクされたシロキサンジエーモ・サブレイヤーに同じようにして付着される。さらに、フィナルなサブレイヤーを電気対共有付着の代わりに、吸着によってサブレイヤーにグラフトできる。とりわけ、吸着されるコンポーネントは、ポリエチレングリコール（PEG）、セルロース誘導体、デキストランまたはポリビニルアルコールである。

発明の要約としては、ガスクロマトグラフィ、HPLCおよび超臨流体制クロマトグラフィにおける不動態化固定相として、使用されるものである。この用途のためには、シロキサン化シリカ（クロマトグラフィのサポート）に炭素化クロマトグラフィ、特にシリカに付着したものがそのまま直接担体として用いることができ、また、担体として、液体相または気相のシロキサン化シリカを使用してゲルフェースのレイヤーを形成する。例えば、逆相クロマトグラフィには、ポリシロキサン化シリカが使用されることは、アルコール、有機溶剤のタイプとシロキサン化を兼ねて、異なったクロマトグラフィ選択性を導くことができる。特定の用途には、特定の副剤（例えば、カルメルセラー）をシロキサン化シリカに結合することによってシリカにロードされることである。

高度にタウリンとされるポリメタルビルンロキサンジオールは、ほとんどのようなアリアルの上で平衡でけりしたフィルムを形成するから、そして、その二重結合はいつか閉じるとなるとノーマルとポリマーとに異なる特性をグラフとせるから、究極のコーティングは、試料とアリアルを吸着を待つか必要であるから、分別に試料を使用されるものである。これらの用途として、例えば、ガラスラベル、試料管、ステンレススチールのジョイント、ビペット先端、エレクトロブレイク、マス分光装置などのコーティングである。

シロキサンジオールのサブユニットを重合する化学反応は、極めて簡単に行える。したがって、サブレイヤーの多数の付随的なモディフィケーションもまた発明の範囲内にある。例えば、求核末端基のいずれか（例えば、ジアミノ

またはジチオール)をもつシロキサンポリマーは、シロキサンジオール形成の反応条件を変えることで行うことができる。これらのポリマーは、アルキルシリケートシランまたは各種の適性なクロシラン(例えば、メチルトリメチルシラン、メチルトリス(メチルエチルケイシロキシ)シラン、メチルトリス(シクロヘキシル)シラン、メチルトリス(N-メチルアセタミド)シラン、テトラメチルシランなど)と同じようにクロシリングできるものである。さらに、クロシリングされたシロキサンジオール層は、第2のコーティングの付着のために、各種バリエーションに富んだ基を含むことができる。上記したヒニル反応性センターのみに、適度な反応基または相互作用の基は、限定されるものではないが、アルメル、アリル、メレフィニ、カルボメルまたは非炭素エポキシを含むものである。さらに、加成コーティング層の取り付けのサイズは、ポリマーの重合体により提供されるものである(図2)。

#### 実施例

A) ポリメチルビニルシロキサンジオールは、塩基性触媒(実施例I)および酸性触媒(実施例II)により合成される(図2)。

#### 実施例 I

25 ml の 0.1, 5, 7-トリブチルシリケートナトリウムシロキサンと 0.1447 g の「パウダー」の NaOH を 140°C に加熱する。3 時間後、粘弾性の重合体をエーテルに溶解し、水添加して中性にする。エーテル析出は、Na、SO<sub>2</sub> の上で乾燥され、廃棄が完了した。黄色い粉を付したポリメチルビニルシロキサンジオールは、粘度約 7 ポイズを有するものである。

#### 実施例 II

25 ml の 0.1, 5, 7-トリブチルシリケートナトリウムシロキサンと 0.9 ml の濃塩酸、SO<sub>2</sub> とを 25 ml の無水エーテルに溶解する。3 日後、室温で攪拌し、粘弾性の重合体を水添加して中性にする。エーテル析出は、Na、SO<sub>2</sub> の上で乾燥され、廃棄が完了した。無色のポリメチルビニルシロキサンジオールは、粘度約 7 ポイズを有するものである。

注射器により直ちにシロキサンジオールをコーティングしたガラス管へ注入する。12 時間の後、重合されているが、グラフトされていないアクリルアミドが漏れ出される。該ガラス管は、使用準備完了である。

#### 実施例 III

1 ml の水に 400 mg のビニルピリジン溶液 (40% モノマー) を 30 分間、ヘリウムを介してのパブリングにより脱ガスする。pH を水酸化アンモニウム (40%) で 10 に調整し、7 ml の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) を添加する。該重合物を注射器によりシロキサンジオールがコーティングされたガラス管へ注入する。50°C、30 分後、該ガラス管を 50 μl の水でリンスする。該ガラス管は、使用準備完了である。

#### 実施例 IV

1 ml の水に 40 mg の N-アクリロイルトリス(ヒドロキシメチル)アミノナフタレン(NAT)の溶液 (40% モノマー) を 30 分間、ヘリウムを介してのパブリングにより脱ガスする。3 μl の TEMED (水に 10 重量%) および 3 μl の APS (水に 10 重量%) を添加する。該重合物を注射器により直ちにシロキサンジオールをコーティングしたガラス管へ注入する。12 時間の後、重合されているが、グラフトされていない NAT が漏れ出される。該ガラス管は、使用準備完了である。

#### 実施例 V

実施例 IV のアクリルアミド・ガラス管に NaOH pH を 10 に調整したフェルムアルゲヒドの 3% 溶液を光照射する。3 時間後、該溶液を 50 μl の水でリンスする。該ガラス管は、使用準備完了である。

C) ポリメチルビニルシロキサンジオールのサブレイヤー皮膜を形成した後、ビニル第二重合体は、また、エポキシ基(実施例 IV)またはジオール基(実施例 IX)へコンバートできる。酸性触媒、塩基性触媒または加熱処理により、エポキシ基は、炭酸ポリマー

ルは、粘度約 75 ポイズを有するものである。

B) 高度にクロシリングされたシロキサンジオールコーティングは、実施例 III に示されているようなステータック方法により形成することができる。両相温度で浸し、キャプラーの面にシロキサンジオールをクロシリングさせ、結合させた後(図3)、アクリルアミド(実施例 IV)、ビニルピリジン(実施例 V)または N-アクリロイルトリス(ヒドロキシメチル)アミノナフタレン(NAT)(実施例 VI)のいずれかをポリマーサブレイヤーにグラフトする。グラフトされたアクリルアミドは、さらに、フェルムアルゲヒドでポリエーテルアクリルアミドへコンバートでき、これは、それ自身と自動的にクロシリングする(実施例 VII)。使用できる他のモノマーは、例えば、ヒドロキシフェルムアルゲヒド(HSEM)、静電ビニル、N-(ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド、N-メタクリロイルトリス(ヒドロキシメチル)-アミノエタン、N-メチルアクリルアミド、N-ブチルアクリルアミド、2-アクリルアミド、メチルプロパシムルフェン、ジアラジメチルシロキサンエポキシグラフトである。

#### 実施例 VI

50 mg のポリメチルビニルシロキサンジオールと 3 μl のビニルアクリルアミドとを 4、8 ml の無水エーテルに溶解する。該重合物を注射器によって溶液シリカガラス(内径=7.5 mm、長さ=70 cm)へ光照射する。該ガラスの一端を封で閉じし、他端に真空をかける。溶剤が完全に蒸発した後、該膜を除去し、該ガラスを 2.4 時間以内に、空气中の湿気にさらす。皮膜の厚さは、約 0.2 μm である。

#### 実施例 VII

1 ml の水に 50 mg のアクリルアミドの溶液 (5% モノマー) を 30 分間、ヘリウムを介してのパブリングにより脱ガスする。10 μl の TEMED (水に 10 重量%) および 10 μl の APS (水に 10 重量%) を添加する。該重合物を

(例えば、ポリメレフィニド、ポリエチレンジアミンまたはポリビニルアルコール)と反応させることができる(実施例 VIII)。Ca<sup>2+</sup>(IV)の存在下、ジオール基を使用して、ビニルモノマー(アクリルアミド、静電ビニル、ビニルピリジンなど)をシロキサンジオール・コアへグラフトさせ、重合させる(実施例 IX)。さらに、チャージされた基をビニル第二重合体を介してサブレイヤーに添加すれば、それらは、電界を作用させたとき、電気浸透速度をエレクトロリシスするに役立つ。(実施例 IX、XI)。これらのチャージされた基は、適当に選択されたトポレグラー、例えば、ポリエーテルによってステアリングされることである。この結果、移動する帯電イオンは、帯電的に吸着されることがない。

#### 実施例 VIII

ガラス管に 1 ml のエーテルにクロロアンモニウム、4 g (50-60%) の重合体をオーバーナイトで浸漬した。翌日、該ガラス管に 1 ml のジオキサンに 0.2 g の BF<sub>3</sub>・SO<sub>2</sub> μl の BF<sub>3</sub> の溶液を光照射し、100°C、1 時間後、該ガラス管をメタノールで、ついで、水でリンスした。

#### 実施例 IX

ガラス管に 0.5 ml の水、0.2 ml のアセトン、24 mg (0.09 mmol) の O<sub>2</sub> および 0.182 g (1.09 mmol) の N-メチルモルホリン・N-オキサイド

2H<sub>2</sub>O の溶液を光照射した。24 時間後、該ガラス管を水洗し、0.5 g のアクリルアミド、10 ml の水、1 M の硝酸に 0.1 M の 4-ピロリジンを含む緩衝剤に 0.25 ml の溶液を光照射した。12 時間後、該ガラス管を水でリンスした。

#### 実施例 X

1 ml の水におけるマインスターの 2 アクリルアミド・メチルプロパシムルフェン 40 mg をヘリウムを介してのパブリングにより脱ガスする。5 μ

1)のTEMED (10重量%)と5μlのAPS (10重量%)を添加する。シランゾールをコーティングしたガラスに該溶液が底面に充満され、12時間後、該溶液を追い出し、該ガラスは、使用準備完了となる。ネガティブにチャージされたコーティングは、カソードに強いe of Electroosmotic flow, Towns and Renner, Anal. Chem. Vol. 64: 2473-2478 (1992年)による)を作る。

#### 実施例 X I

[1μ]の水におけるプラスチャージのシアリルシメチル化アンモニウムの3.20mgをヘラウを介してのパブリグにより脱ガスする。20μlのTEMED (10重量%)と20μlのAPS (10重量%)を添加する。シランゾールをコーティングしたガラスに該溶液が底面に充満され、12時間後、該溶液を追い出し、該ガラスは、使用準備完了となる。ポジティブにチャージされたコーティングは、アノードに強いe ofを作る。

D) 発明の複層コーティングは、プロテインのオープンチューブCZE分離 (実施例XII、XIII)に、プロテインのSDSゲル分離 (実施例XIV)に、DNAのゲル分離 (実施例XV)に、DNAシーケンシング分離 (実施例XVI)に成功して使用されている。他の用途も除外されるべきものではない。

#### 実施例 X II

(図5)。試料: (1) リゾチーム、(2) シトクロムc、(3) リボステラール、(4) イノゴロビン、(5) トリプルノグリン。コーティング: 実施例IX。  
条件: 全長L=56cm、注入端から検知窓への長さl=28cm、内径=75μm、電圧30kV、25分間、8.5kV; 70mMメタノール・メチルプロパノール、0.6% SDS/TES (pH 8.1) に溶解されたバッファ・およびポリマー・ネットワーク10% (w/v) デキストラン (MW 2,000, 999)。

#### 実施例 X III

L=18cm、内径=75μm。エレクトロフォログラム (通電クロマトグラム) の断面が示されている。分極マトリックス: 100%TEMED=0.5μlおよび10%APSの1.0μlで混合された8%Tアクリルアミド。電圧: 250V/cm。  
分離速度: 24°C。非印電インジェクション: 7秒。  
ゲルバッファー: 1) X TBE+30% (v/v) フォルマミド+3.5M 炭素。

E) 他の実施例においては、トリプレニールは、吸着性コーティングにより除去することができる。

#### 実施例 X IV

シロキサンをコーティングしたガラスにセルロースの1%水溶液 (高粘特性) を充満する。12時間後、該溶液を追い出し、使用準備完了となる。セルロースの代わりに、0.5%PVA124 000水溶液が同じ用途に使用できる。

発明の他の実施例は、本明細書と考慮し、または、ここに記載された発明のブランチから当業者に知られるものである。以下の請求の範囲に示された発明の真の範囲とスピリットで、切取書と実施例は、例示のみとしてみなされるべきであることが裏付けされている。

(図6)。試料: (1) グルコース-6-リン酸脱水糖、(2) トリプシン・インヒビタ、(3) β-ラクトグロブリン A、(4) L-アスパラギナーゼ、(5) αラクトアルブミン。コーティング: 実施例IV。

条件: バッファー: 20mM TAPS (pH 8.8) 以外は、実施例XIIと同じである。

#### 実施例 X V

(図7)。試料: 還元されたプロテイン・SDS 溶液、(1) イノゴロビン、(2) 炭酸脱水糖、(3) オパール、(4) 牛血清蛋白、(5) 加糖分解酵素 B。  
コーティング: 実施例V。  
条件: 全長L=25cm、注入端から検知窓への長さl=18cm、内径=75μm、電圧30kV、25分間、8.5kV; 70mMメタノール・メチルプロパノール、0.6% SDS/TES (pH 8.1) に溶解されたバッファ・およびポリマー・ネットワーク10% (w/v) デキストラン (MW 2,000, 999)。

#### 実施例 X VI

(図8)。試料: DNA ΦX174-HaeIII。コーティング: 実施例IV。  
条件: 全長L=58cm、注入端から検知窓への長さl=30cm、内径=75μm、電圧: 紫外線260nm: 300V/cm、13μA; バッファ・およびポリマー・ネットワーク3%ポリアクリルアミド。

#### 実施例 X VII

(図9)。試料: FAM-ラベルされたM13(-21)プライマーズ (ABI)、(A>G)→Gを用いるM13mp18シングル・ストランドのファージDNAの溶液。  
コーティング: 実施例IV。全長L=33cm、注入端から検知窓への長さ

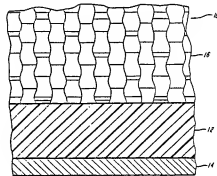


FIG. 1

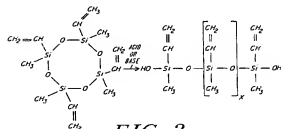


FIG. 2

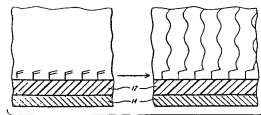
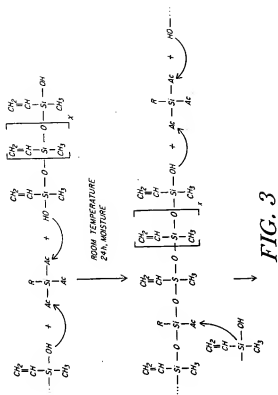


FIG. 4

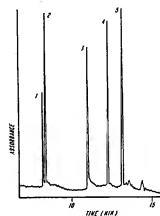


FIG. 5

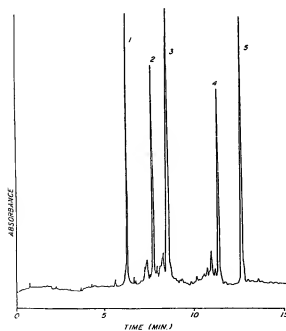


FIG. 6

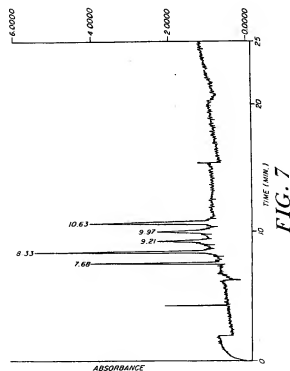
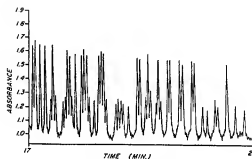
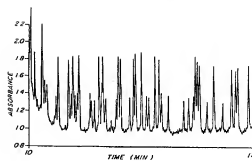
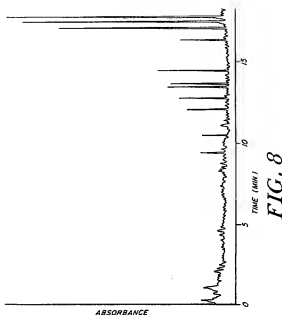


FIG. 7



[illegible]

圖書與參考報告		Informational acquisition No. PCT/PVS 92/00183
Document identifier (LITCATED) or file identifier		
Category	Number of documents with abstracts (in brackets), if no formal passage	Abstract or index No.
A	DE.A.30.55.026 (E. BAYERS) 20 August 1981 see claim 1	1
A	US.A.4 450 740 (G. M. VAN ALSTINE) 1 September 1981 see column 10, line 7 - line 13	1
A	EP.A.2 417 825 (NORTHEASTERN UNIVERSITY) 29 March 1981 see page 5, line 25 - line 35	1

国際調査報告			
Patent document and/or publication		International application No. PCT/JP 92/0512	
Patent No.	Patent No.	Patent No.	Patent No.
US-A-5110439	01-05-92	EP-A- 0529899	03-03-92
US-A-4274061	30-06-81	US-A- 4242227	30-12-80
DE-A-3005024	20-08-81	EP-A, B 0024126	26-08-81
		US-A- 4387268	07-08-81
US-A-4890749	01-08-87	NONE	
EP-A-0417925	20-03-91	US-A- 4997537	01-03-91
		US-A- 5112440	12-05-92
		CA-A- 2621062	13-03-91
		JP-A- 3163553	15-07-91

From PCT/JP 92/0512 (Page 10 of 10)

フロントページの続き

(72)発明者 フォレット, フランチェスク  
 アメリカ合衆国 02148 マサチューセツ  
 ツ州 マルデン ナンバー 40 ハイラン  
 ド アベニュー 525